光周期对中华通草蛉自然越冬成虫及实验种群幼虫耐寒能力的影响

陈珍珍[1]，卢 虹[1]，王跃骅[2]，曹艳霞[3]，于金凤[1]，印象初[1]，许永玉[1,*]
（1. 山东农业大学植物保护学院，山东泰安 271018；2. 山东省枣庄市农业科学研究院，山东枣庄 277300；
3. 山东省东营市园林局，山东东营 257091）

摘要：【目的】滞育诱导期进行短光照处理可影响昆虫耐寒性。为明确光周期对中华通草蛉 *Chrysoperla sinica* (Tjeder)耐寒性的影响，针对中华通草蛉滞育解除过程及非滞育虫态的耐寒性进行了一系列研究。【方法】测定了中华通草蛉自然越冬成虫的过冷却点(supercooling point, SCP)以及长光周期(15L:9D)和短光周期(9L:15D)条件下自然越冬成虫在滞育解除过程中在－12℃下的死亡率，并测定了室内长、短两种光周期下实验种群2龄和3龄幼虫的过冷却点(SCP)、结冰点(freezing point, FP)以及－7℃下的死亡率。【结果】中华通草蛉12月份的自然越冬成虫SCP集中在－10～－14℃之间。SCP低于－12℃的个体占43.70%，且－12℃处理1 d死亡率为62.00%。－12℃处理1 d条件下的长、短光周期处理自然越冬成虫，除处理0 d外，长光周期处理死亡率均高于短光周期处理的，且在处理15 (P=0.012)，20 (P=0.01)和25 d (P=0.001)差异显著。中华通草蛉试验种群相同龄期幼虫在短光周期下的SCP和FP均高于长光周期下，但差异不显著(P>0.05)；但在－7℃下，2龄幼虫短光周期下的低温死亡率为67.00%±4.04%，显著低于长光周期下的低温死亡率(78.00%±1.33%)(P=0.011)，3龄幼虫短光周期条件下低温死亡率为24.33%±1.33%，显著低于长光周期下的低温死亡率(53.00%±3.46%)(P=0.002)。【结论】中华通草蛉为结冰敏感型，诱导滞育的短光照处理可提高其幼虫期及滞育解除过程中成虫的耐寒能力。

关键词：中华通草蛉；滞育；光周期；越冬成虫；幼虫；耐寒性
中图分类号：Q965 **文献标识码**：A **文章编号**：0454-6296(2014)01-0052-09

Effects of two different photoperiods on cold hardiness of naturally overwintering adults and laboratory-bred larvae of *Chrysoperla sinica* (Neuroptera: Chrysopidae)

CHEN Zhen-Zhen[1], LU Hong[1], WANG Yue-Hua[2], CAO Yan-Xia[3], YU Jin-Feng[1], YIN Xiang-Chu[1], XU Yong-Yu[1,*] (1. College of Plant Protection, Shandong Agricultural University, Tai'an, Shandong 271018, China; 2. Zaozhuang Municipal Agricultural Academy, Zaozhuang, Shandong 277300, China; 3. Dongying Municipal Garden and Forestry Bureau, Dongying, Shandong 257091, China)

Abstract: 【Aim】Short photoperiod can influence cold hardiness of insects in diapause-inducing period. In order to clarify the effects of photoperiod on cold hardening of *Chrysoperla sinica* (Tjeder), our study focused on cold hardiness of *Ch. sinica* adults during the process of diapause-termination and non-diapause periods. 【Methods】The supercooling ability (supercooling point, SCP; freezing point, FP) and the mortalities of overwintering adults from the natural population at －12℃ and the 2nd and 3rd instar larvae of the laboratory population at －7℃ were investigated during adult diapause termination and induction of the long (15L: 9D) and short photoperiods (9L: 15D) in the laboratory condition, respectively. 【Results】The SCP values of overwintering *Ch. sinica* adults in December were mainly distributed between －10℃ and －14℃. The SCP values of 43.70% overwintering adults were below －12℃, and the mortality of overwintering adults at －12℃ for 1 d was 62.00%. The mortalities of overwintering adults at －12℃ treated under the long photoperiod were higher than those under the short photoperiod except those treated for 0 d, and significant difference existed among adults treated for 15,

基金项目：国家重点基础研究发展规划("973"计划)项目(2013CB127605)；山东省小麦产业技术体系项目；农业虫害鼠害综合治理研究国家重点实验室开放研究基金资助项目(ChineseIPM1417)

作者简介：陈珍珍，女，1987年生，山东德州人，博士研究生，研究方向为昆虫生理生态，E-mail：chenzz0327@163.com
* 通讯作者 Corresponding author, E-mail：xuyy@sdau.edu.cn

收稿日期 Received：2013-09-16；接受日期 Accepted：2013-12-25

20, and 25 d. The SCP and FP values of the 2nd and 3rd instar larvae in the short photoperiod were higher but had no significant difference from those in the long photoperiod ($P > 0.05$), but the mortalities of the 2nd and 3rd instar larvae at −7℃ under the short photoperiod were 67.00% ± 4.04% and 24.33% ± 1.33%, significantly lower than those under the long photoperiod, which were 78.00% ± 1.33% and 53.00% ± 3.46%, respectively. 【Conclusion】The results indicate that the *Ch. sinica* is a freeze-intolerant insect, and its cold hardiness could be enhanced under the diapause-inducing short photoperiod.

Key words: *Chrysoperla sinica*; diapause; photoperiod; over-wintering adult; larvae; cold hardiness

昆虫耐寒性是一个被广泛研究的热点领域(Sømme, 1999; Bale, 2002; Sinclair *et al*., 2003)。有关低温生物学的研究目前已经有较大的突破，但是关于引起其耐寒性变化的光周期和温度及它们之间交互作用的时序性却被人们所忽视(Hodkova and Hodek, 2004)。滞育与耐寒性的关系本身就是一个有争议的话题(Hodkova and Hodek, 2004)，光周期是直接影响昆虫对温度的耐受性，还是通过诱导昆虫的滞育而引起耐寒性的提高？很多情况下，昆虫耐寒性的提高在滞育的启动阶段体现，而在遇到寒冷刺激时得到明显表达(Hodková *et al*., 2002; Hodkova and Hodek, 2004; Koštál *et al*., 2004a, 2004b)。昆虫体内一些小分子抗冻物质如甘油、滞育蛋白、自由氨基酸的增加会提高其耐寒性(Sømme, 1999)。而昆虫在滞育诱导期间体内用于能量储存的甘油、糖原、蛋白含量的增加(Koštál, 2006)，也会导致滞育昆虫抗逆性的提高。有关滞育和非滞育昆虫的耐寒性已有较多研究，许多昆虫滞育状态耐寒性均高于非滞育状态，越冬时期耐寒性高于生长季节耐寒性，如中华通草蛉 *Chrysoperla sinica* (Tjeder)(郭海波等, 2006)、异色瓢虫 *Harmonia axyridis* (赵静等, 2008)、果蝇 *Drosophila montana* (Vesala and Hoikkala, 2011)、麻蝇 *Sarcophaga crassipalpis* (Lee and Denlinger, 1985)等。但有些昆虫的滞育并未提高其抗寒性，对欧洲玉米螟 *Ostrinia nubilalis* 幼虫的研究很好地证明了这一点(Denlinger, 1991)。

有关光周期对昆虫耐寒性影响的研究较少且多集中在滞育诱导虫态。Vesala 和 Hoikkala (2011) 对果蝇的研究证明短光周期会诱导昆虫滞育，从而提高昆虫的耐寒性。短光周期处理的短翅蚜小蜂 *Aphelinus asychis* (Walker)雌蜂比长光周期下的雌蜂低温耐受性要强(Tatsumi and Takada, 2005)。光周期可通过昆虫滞育诱导而引起的体内一系列生理、生化变化来增强低温耐受性(Hodkova and Hodek, 2004)。目前昆虫滞育解除机制仍不十分明确。中华通草蛉解除滞育过程中需要一定的光、温刺激和相应的食物条件，陈珍珍等(2013b)的研究发现，中华通草蛉滞育解除过程中雌、雄成虫过冷却点(supercooling point, SCP)在长、短光周期下不同处理时间呈先降后升趋势。虽然 SCP 的生态学意义至今仍然是模棱两可的(Renault *et al*., 2002)，但 SCP 和低温存活能力常作为重要指标来衡量昆虫耐寒性的强弱(Nedvěd *et al*., 1998; Renault *et al*., 2002; Chen and Kang, 2002; Colinet *et al*., 2006; 赵静等, 2008)。而在滞育解除过程中昆虫耐寒性是怎样变化的没有研究，且由于昆虫滞育与耐寒之间的模糊关系(Pullin *et al*., 1991; Hodkova and Hodek, 2004)，以及不同光周期处理昆虫 SCP 的复杂变化趋势(陈珍珍等, 2013b)，使得研究长、短光周期对中华通草蛉滞育解除过程中耐寒性的影响更有意义。

目前关于光周期对非滞育虫态昆虫耐寒性的研究很少。对甜菜夜蛾 *Spodoptera exigua* (Hübner) 的研究发现，长光周期 16L∶8D 和短光周期 8L∶16D 处理的幼虫的耐寒性无显著差异，Kim 和 Song (2000)认为造成这种现象是由于非滞育虫态幼虫没有滞育诱导机制而导致的对光照长度的不敏感性。而我们在中华通草蛉饲养过程中发现，短光周期饲养的幼虫发育历期显著长于长光周期，且发育过程中的死亡率低于长光周期下，这说明中华通草蛉非滞育虫态幼虫也可以感受光周期的变化。研究光周期对中华通草蛉幼虫耐寒性的影响，对于弄清光周期与耐寒性的关系有着重要的意义。本实验通过测量中华通草蛉的过冷却能力及低温存活能力，研究了自然越冬成虫在滞育解除过程中对长、短光周期的反应，及非滞育虫态 2 和 3 龄幼虫在长、短光周期下耐寒能力的变化，旨在为光周期理论增加新的数据支持。

1 材料与方法

1.1 供试虫源

中华通草蛉自然越冬成虫于2012 年10 月网捕于山东农业大学校园内一串红 *Salvia splendens* Ker-Gawler 及槐树 *Sophora japonica* L. 上。采集的成虫置于罐头瓶(高 11 cm × 直径 9 cm)中，并用纱布封口，置于室外人工棚内越冬。成虫饲喂啤酒酵母干粉饲料(将啤酒酵母干粉和食糖按质量比为 10:8 的比例混合，用研钵研细后过 60 目筛即成)和按质量体积比配制而成的 10% 蜂蜜水。

1.2 中华通草蛉自然滞育成虫过冷却点及低温存活率测定

于 12 月 23 日，从室外人工棚中随机取出体色和个体大小基本一致的中华通草蛉成虫(♀:♂ = 1:1) 150 头进行 SCP 测定，测定方法参照陈珍珍等(2013b)。通过测定成虫 SCP 并初步确定其致死低温。经预试验后，低温存活率试验设置了 4 个温度梯度：-5℃，-10℃，-12℃ 和 -15℃，5 个处理时间梯度：0.5，1，3，5 和 10 d。于 12 月份随机取出体色和个体大小基本一致的成虫 30 头(♀:♂ = 1:1)置于罐头瓶内，并用纱布封口，直接暴露于不同恒定低温设置的低温箱(BCD-219SKDC 型，青岛海尔股份有限公司)中，处理给定时间后取出。将低温处理后的试虫放在 25℃、光周期 15L:9D 的光照培养箱内恢复 24 h 后检查试虫存活数。共 20 个处理，每处理重复 3 次。

1.3 长、短光周期条件下中华通草蛉自然越冬成虫滞育解除中的耐寒性

于 12 月 23 日，室外人工棚中随机取出体色和个体大小基本一致的中华通草蛉滞育成虫，置于 20℃ 长光照(15L:9D)和短光照(9L:15D)的光照培养箱(LRH-150-G，广东省医疗器械厂)中饲养，两种光周期处理成虫各 500 头(♀:♂ =1:1)。根据 1.2 节，选定低温死亡率所用温度为 -12℃。于处理 0，5，10，15，20 和 25 d 分别随机取出 30 头成虫测定其在低温 -12℃ 处理 1 d 的死亡率，试验重复 3 次。

1.4 长、短光周期条件下中华通草蛉实验种群 2 和 3 龄幼虫耐寒性

收集实验室长期饲养的中华通草蛉实验种群卵，初孵幼虫分别置于 25℃ 长光照(15L:9D)和短光照(9L:15D)条件下饲养至 2 龄和 3 龄幼虫供试验用。25℃ 下中华通草蛉 2 龄幼虫期为 3 ~ 4 d，3 龄幼虫期为 4 ~ 5 d。分别取不同光照处理 2 龄第 2 天和 3 龄第 3 天的幼虫 60 ~ 70 头进行 SCP 和结冰点(freezing point, FP)的测定。根据 2 个龄期幼虫的 SCP，选定低温死亡率所用低温为 -7℃。测定幼虫于 -7℃ 处理 6 h 的低温死亡率，每处理幼虫各 30 头，重复 3 次。

1.5 数据处理

利用统计软件 SPSS16.0 for windows 对实验所得数据进行统计分析，获得平均值及标准误。对不同处理间的差异进行单因素方差分析(One-Way ANOVA)和 Tukey 氏 HSD 多重比较($P < 0.05$)，不同光周期之间的差异比较为 t 检验。

2 结果与分析

2.1 中华通草蛉自然越冬成虫的耐寒性

2012 年 12 月份中华通草蛉滞育成虫 SCP 集中在 -10 ~ -14℃ 之间，没有高于 -5℃ 的个体(图 1)。SCP 在 -10℃ 以上的个体占总体的 17.64%，低于 -12℃ 的个体占 43.70%，其中 -15℃ 以下的个体占 9.24%。由 12 月份中华通草蛉滞育成虫低温死亡率(表 1)可以看出，-5℃ 成虫随处理时间延长均没有死亡现象。-10℃ 随处理时间延长死亡率逐渐升高，处理 0.5 d 与处理 1 d 无显著性差异($P = 0.174$)，其余均差异显著($F_{4,10} = 196.95$, $P < 0.001$)。-12℃ 处理 1 d 死亡率达 62.00% 且与处理 0.5 d 的没有显著性差异($P = 0.409$)，但随时间延长死亡率升高至处理 10 d 全部死亡，且在 1 d 后处理间死亡率差异显著($F_{3,8} = 69.85$, $P <$

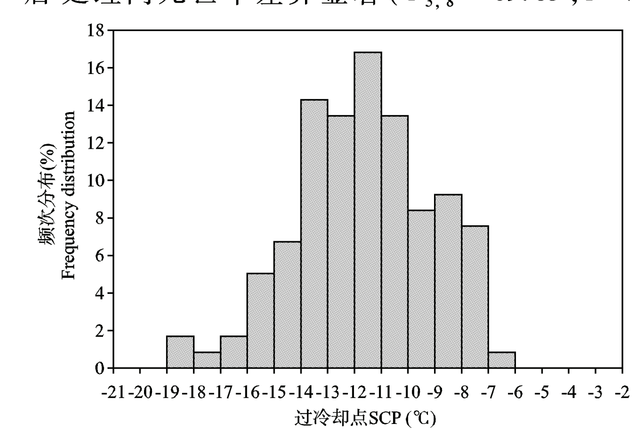


图 1 中华通草蛉自然越冬成虫在 2012 年 12 月份的 SCP 频次分布

Fig. 1 Frequency distribution of supercooling point (SCP) of overwintering *Chrysoperla sinica* adults in December in 2012

表 1　中华通草蛉 2012 年 12 月份的自然越冬成虫在不同低温下处理不同时间的死亡率

Table 1　Mortalities of overwintering *Chrysoperla sinica* adults treated for different time under different low temperatures in December in 2012

温度(℃) Temperature	死亡率 Mortality (%)				
	0.5 d	1 d	3 d	5 d	10 d
-5	0	0	0	0	0
-10	11.11 ±1.10 d	18.00 ±1.10 d	33.33 ±2.00 c	60.00 ±1.70 b	72.33 ±2.91 a
-12	57.67 ±1.45 c	62.00 ±1.16 c	75.00 ±2.89 b	92.33 ±1.45 a	100
-15	80.00 ±0.88 b	91.22 ±2.44 a	100	100	100

同行数据后不同字母表示同种处理不同天数差异显著(单因素方差分析和 Tukey 氏 HSD 多重比较，$P<0.05$)。Different letters following the data within a row indicate significant differences by Tukey's HSD test at the 0.05 level.

0.001)。-15℃处理0.5 d 死亡率即达80.00%，处理1 d 死亡率可达91.22%，显著高于处理0.5 d 的($t=-4.41$，$df=4$，$P=0.012$)。-12℃处理 10 d 和-15℃处理 3 d 成虫全部死亡，由于死亡可能发生在之前的某个时间，因此死亡率达 100% 的处理并未列入统计分析。

2.2　长、短光周期处理对中华通草蛉自然越冬成虫滞育解除过程中低温死亡率的影响

两种光周期条件下成虫随处理时间延长均呈相似的变化趋势(图 2)。两种光照条件下处理 10 d 死亡率虽均稍高于处理 5 d 与处理 0 d 的，但差异不显著($P>0.05$)。成虫在长光照条件下处理 15 d 的死亡率最低，为 47.67%±1.45%，显著低于处理 0 d (62.00%±1.16%)和 10 d (66.67%±4.06%)的($F_{5,12}=8.483$，$P=0.001$)；处理 25 d 的成虫死亡率最高，为 69.00%±2.00%，但与处理 0 d 的无显著性差异($P=0.458$)。成虫在短光周期下处理 20 d 的死亡率最低，为 30.00%±1.73%，处理25 d 的成虫死亡率为 41.33%±1.33%，显著高于处理 15 d (33.67%±2.40%)和处理 20 d 的，但显著低于处理 0 d (62.00%±1.16%)、5 d (59.00%±1.00%)和 10 d (64.00%±1.53%)的成虫死亡率($F_{5,12}=90.359$，$P<0.001$)。短光照处理不同时间的成虫死亡率均低于长光照处理的，且在处理 15，20 和 25 d 两光周期处理间存在显著差异(处理 15 d：$t=-4.984$，$df=4$，$P=0.012$；处理 20 d：$t=-6.245$，$df=4$，$P=0.01$；处理 25 d：$t=-11.51$，$df=4$，$P=0.001$)。

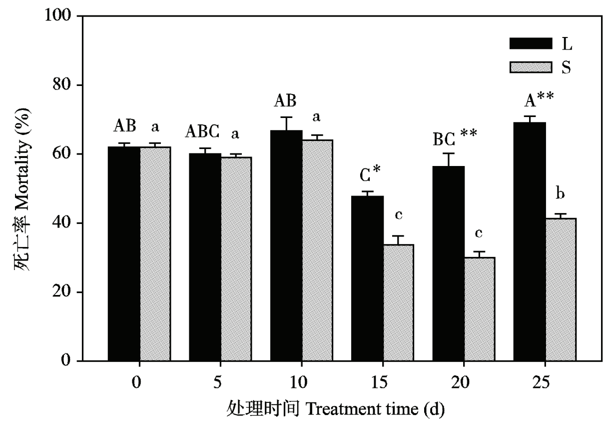


图 2　两种光周期下中华通草蛉越冬成虫滞育解除过程中的低温(-12℃)死亡率变化

Fig. 2　Changes of the mortalities of overwintering *Chrysoperla sinica* adults reared in two different photoperiods at -12℃ during diapause termination

L：长光照 Long photoperiod (15L:9D)；S：短光照 Short photoperiod (9L:15D)。柱上星号与双星号分别表示长光照与短光照两处理间死亡率 t 检验差异显著($P<0.05$)和极显著($P<0.01$)；柱上不同大、小写字母分别表示长、短光照处理不同天数差异显著(单因素方差分析和 Tukey 氏 HSD 多重比较，$P<0.05$)。The asterisk and double asterisk above bars indicate significant difference at the 0.05 level and extremely significant difference at the 0.01 level by t test in the mortality between adults treated under the long photoperiod and short photoperiod, respectively. Capital and lowercase letters above bars indicated significant differences in mortalities of adults treated under the long and short photoperiods for the same period by Tukey's HSD test ($P<0.05$), respectively.

2.3　长、短光周期对中华通草蛉实验种群幼虫期耐寒性的影响

由中华通草蛉幼虫 SCP(图 3)与 FP(图 4)的频次分布可以看出，SCP与FP均呈短光照高于长光照，3 龄幼虫高于 2 龄幼虫的趋势。长光照条件下 2 龄幼虫 SCP 集中在-12～-20℃之间，而短光照 2 龄幼虫 SCP 则集中在-10～-18℃之间，长光照条件下 2 龄幼虫 FP 集中在-8～-18℃之间，短光照下的 2 龄幼虫 FP 则集中在-6～-14℃。长光照下 3 龄幼虫 SCP 集中在-10～-18℃之间，而短光

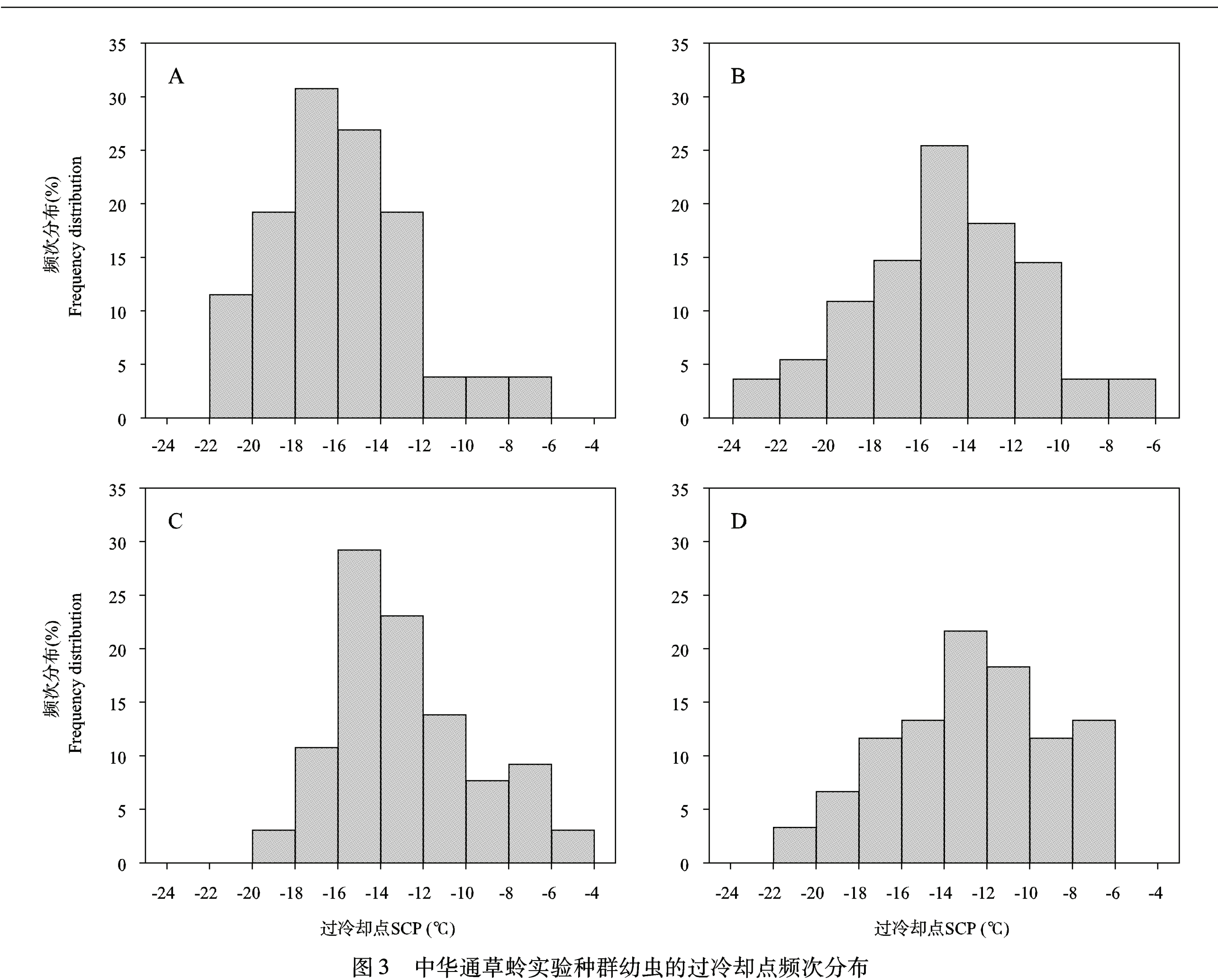


图 3 中华通草蛉实验种群幼虫的过冷却点频次分布

Fig. 3 Frequency distribution of supercooling point (SCP) in laboratory-bred larvae of *Chrysoperla sinica*

A: 长光周期, 2 龄幼虫 Long photoperiod (15L:9D), 2nd instar larva; B: 短光周期, 2 龄幼虫 Short photoperiod (9L:15D), 2nd instar larva; C: 长光周期, 3 龄幼虫 Long photoperiod (15L:9D), 3rd instar larva; D: 短光周期, 3 龄幼虫 Short photoperiod (9L:15D), 3rd instar larva. 图 4 同 The same for the Fig. 4.

照则集中在 -6 ~ -18℃之间, 长光照下 3 龄幼虫 FP 则集中在 -4 ~ -14℃间, 短光照处理的 3 龄幼虫 FP 则集中在 -2 ~ -10℃间。但短光照条件下幼虫的 SCP 与 FP 最低值均低于长光照下。对相同龄期不同光照处理间 SCP 及 FP 的均值进行 t 检验发现, 短光照下 2 龄幼虫 SCP 为 -16.47 ±0.48℃, 高于长光照下 -15.61 ±0.51℃, 但差异不显著(t =1.213, df =115, P =0.275)。3 龄幼虫 SCP 短光照下 -12.96 ±0.49℃, 高于长光照下 -13.74 ±0.51℃, 但差异不显著(t = 1.103, df = 123, P = 0.272)。幼虫在短光照下的 FP 也均高于长光照下, 但差异不显著(2 龄: t =0.652, df =123, P = 0.260; 3 龄: t =0.086, df =123, P =0.931)。

两种光周期下中华通草蛉幼虫 -7℃低温死亡率如图 5。2 龄幼虫短光周期下低温死亡率为 67.00% ±4.04%, 显著低于长光周期下的低温死亡率78.00% ±1.33% (t =4.435, df =4, P =0.011); 3 龄幼虫短光周期下低温死亡率为24.33% ±1.33%, 显著低于长光周期下的低温死亡率 53.00% ± 3.46% (t =7.723, df =4, P =0.002)。

3 讨论

3.1 中华通草蛉的耐寒策略

昆虫的耐寒策略一般可分为耐结冰型和不耐结冰型两种(Baust and Rojas, 1985; Zachariassen, 1985; Lee, 1991), 不耐结冰型昆虫则通过降低 SCP 的方法避免结冰伤害。SCP 不能单独作为可信指标, 而是与低温死亡率相互作用来衡量昆虫的耐寒性(Bale *et al.*, 1988)。Nedvěd 等(1998)用测定

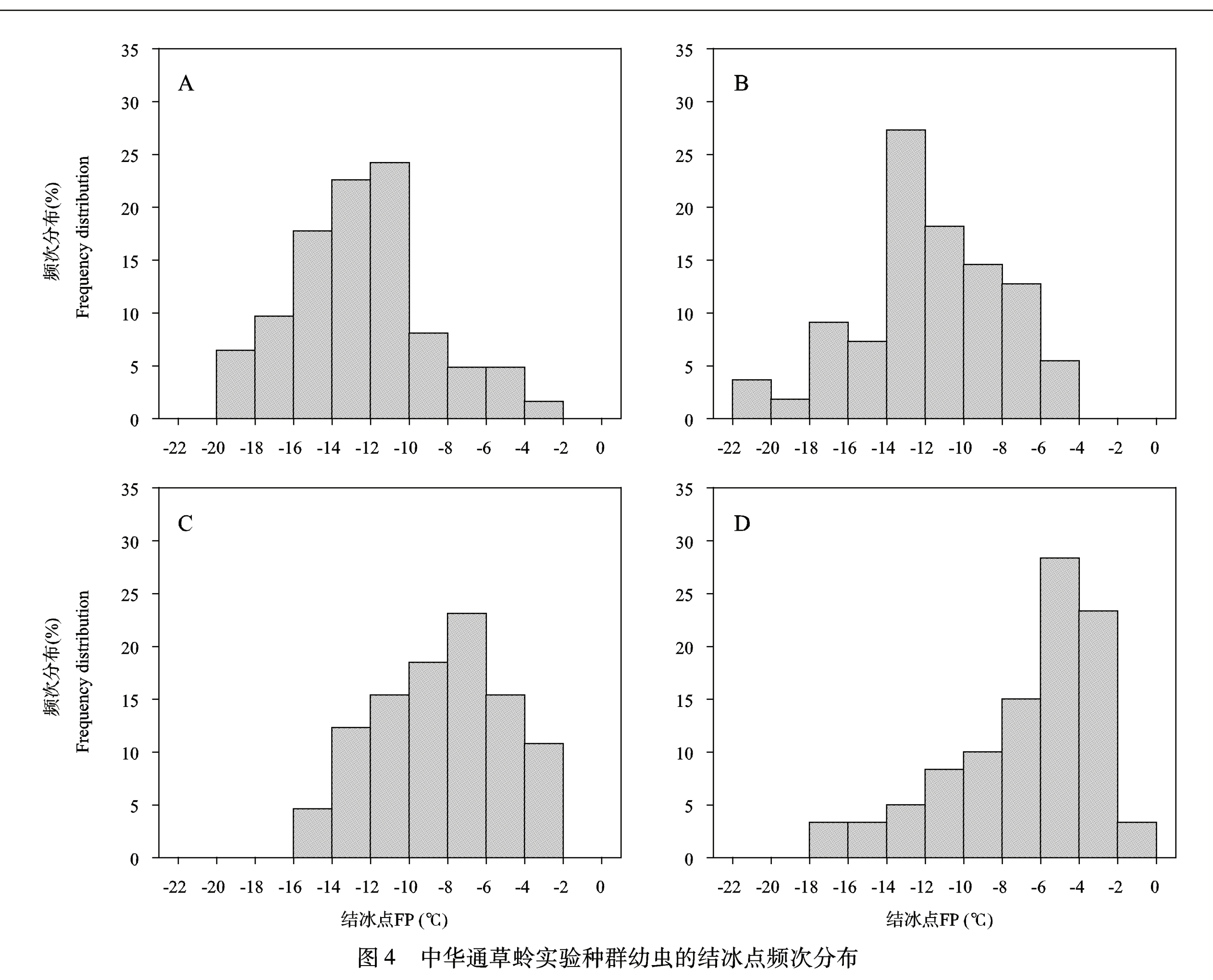


图 4　中华通草蛉实验种群幼虫的结冰点频次分布

Fig. 4　Frequency distribution of freezing point (FP) in laboratory-bred larvae of *Chrysoperla sinica*

SCP 和存活率的方法来判断是否由结冰和非结冰导致的死亡。昆虫的耐寒性策略可通过平均 SCP 以上或以下低温暴露(Bale, 1991)和比较不同低温下个体的累积死亡率来判定(Koch *et al*., 2004; Carrillo *et al*., 2005)。中华通草蛉自然越冬种群 12 月份 SCP 平均值为 -11.57 ± 0.23℃, SCP 在 -10℃以上的个体占总体的 17.64%, -10℃处理 1 d 的个体累积死亡率达 18.00%, -12℃处理 1 d 的个体累积死亡率达 62.00%。可知中华通草蛉越冬成虫的耐寒性是与 SCP 密切相关的。滞育解除过程中中华通草蛉成虫死亡率呈先下降后上升的趋势, 这与中华通草蛉越冬成虫在滞育解除过程中, SCP 随处理时间的延长表现出先下降后上升的变化趋势相一致(陈珍珍等, 2013b)。这说明, 中华通草蛉越冬成虫是不耐结冰型的, 越冬成虫通过降低自身的 SCP 避免体液结冰。两种光照条件下的中华通草蛉幼虫均在 SCP 以上低温就造成大量死亡, 也说明中华通草蛉幼虫的耐寒性策略为结冰敏感型。许多其他不耐结冰型昆虫如印度谷螟 *Plodia interpunctella* (Carrillo *et al*., 2005)、异色瓢虫(Koch *et al*., 2004)、苹果蠹蛾 *Cydia pomonella* (Khani and Moharramipour, 2009)均表现出相似的低温死亡率随 SCP 降低而减少的现象。性别对中华通草蛉成虫的 SCP 无显著性影响(陈珍珍等, 2013b), 因此本实验中自然越冬成虫 SCP 及低温死亡率的测定均未分雌雄。

3.2　光周期引起的中华通草蛉成虫滞育解除、滞育发育与耐寒性的关系

有关中华通草蛉在滞育解除过程中对光周期的响应, 我们已做过大量研究, 长、短光周期处理的中华通草蛉滞育解除过程中的体重变化、物质含量、过冷却能力及代谢酶与抗逆酶活性均呈现出一定的差异性变化(陈珍珍等, 2013a, 2013b)。本研究结果也显示, 中华通草蛉滞育解除过程中, 短光周期下处理不同时间成虫死亡率均低于长光周期处理, 且在处理后 15, 20 和 25 d 差异显著, 这说明光

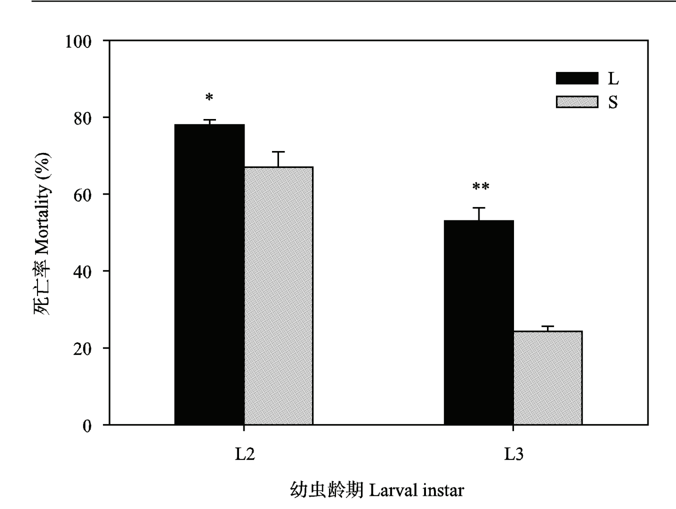


图 5　两种光周期下中华通草蛉幼虫的低温(-7℃)死亡率比较

Fig. 5　Comparison of the mortalities of *Chrysoperla sinica* larvae reared in two different photoperiods at -7℃

L: 长光周期 Long photoperiod (15L∶9D); S: 短光周期 Short photoperiod (9L∶15D). L2: 2 龄幼虫 2nd instar larvae; L3: 3 龄幼虫 3rd instar larvae. 柱上星号和双星号分别表示长光周期与短光周期两处理间幼虫死亡率 *t* 检验差异显著(*P* < 0.05)和极显著(*P* < 0.01)。The asterisk and double asterisks above bars indicate significant difference at the 0.05 level and extremely significant difference at the 0.01 level by *t* test in the mortality of larvae under the long photoperiod and short photoperiod, respectively.

周期对滞育成虫耐寒性是有一定影响的，短光照处理可以提高成虫的耐寒性。长光照成虫处理 10 d 即可产卵说明解除滞育，短光照成虫则处理25 d才可解除滞育(陈珍珍等，2013b)，而处理 15 d 后低温死亡率差异显著，说明两种光照条件下低温死亡率的差异可能是滞育与非滞育成虫之间的生理差异所引起的。Higuchi 和 Kimura(1985)发现叔白颜果蝇 *Drosophila triauraria* 成虫在滞育诱导光周期 14L∶10D 条件下，其存活率高于正常饲养光周期 16L∶8D 下。Pullin(1996)也发现光照长度可以单独或者通过引起滞育来影响蝇类的耐寒性。Vesala 和 Hoikkala (2011)的研究也发现，短光周期处理的果蝇 *D. montana* 在冷处理之前其耐寒性均已提高且大部分均已进入生殖滞育。这些证据均表明光周期引起的耐寒性与滞育是密切相关的。本实验中前 10 d 处理的越冬成虫均处于未完全解除滞育状态，但由于短光周期对成虫生殖发育的抑制作用而引起的生理差异也会引起其耐低温能力的不同。

滞育解除过程中，中华通草蛉面临着由光周期变化而引起的激素变化和滞育小分子物质的分解。Horwath 和 Duman(1983)的研究发现，保幼激素可调节加拿大拟步甲 *Dendroides canadensis* 的耐寒性。外源保幼激素 JH 可增加锹甲 *Ceruchus piceus* 幼虫(Xu *et al*., 1990)和金针瘿蚊 *Eurosta solidaginis* 幼虫(Rojas *et al*., 1987)的耐寒性。成虫在滞育解除过程中，外源保幼激素则会降低黑足黑守瓜 *Aulacophora nigripennis* 的低温存活率(Watanabe and Tanaka, 1998)。保幼激素可刺激滞育雌、雄成虫的生殖发育(Herman and Dallmann, 1981)，外源保幼激素的使用可阻止多数昆虫的生殖滞育(Watanabe and Tanaka, 2000)。许永玉(2001)研究发现，保幼激素含量的降低是抑制成虫卵巢发育从而导致成虫生殖滞育的重要原因之一。这说明在中华通草蛉滞育解除过程中，保幼激素含量变化起着重要的调控作用。保幼激素含量变化是否是造成成虫低温死亡率在两种光周期之间的差异的原因，还需进一步研究。

3.3　光周期引起的中华通草蛉幼虫耐寒性的变化

有关昆虫在非滞育虫态对光周期响应的研究较少。以成虫滞育的白杨叶甲 *Chrysomela populi* 幼虫感受到秋季短光照作用而加速发育，说明幼虫可以感受光周期的作用(Kutcherov *et al*., 2011)。Xu 等(2004)研究发现，幼虫期的光照经历也会对成虫期的滞育诱导有一定的影响作用，说明短光照有一定的积累作用。本实验中中华通草蛉幼虫期对短光照也有一定的反应，短光照条件下中华通草蛉 2 和 3 龄幼虫耐寒性均显著高于长光照，这同时也说明幼虫是可以感受光周期并作出响应的。有关中华通草蛉非滞育虫态是如何感受光周期，对不同光周期是如何响应的及其生理生化适应机制还有很大的研究空间。

参考文献(References)

Bale JS, 1991. Implications of cold hardiness for pest management. In: Lee REJr, Denlinger DL eds. Insects at Low Temperature. New York and London, Chapman and Hall. 461-498.

Bale JS, 2002. Insects and low temperatures: from molecular biology to distributions and abundance. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 357: 849-862.

Bale JS, Harrington R, Clough MS, 1988. Low temperature mortality of the peach-potato aphid *Myzus persicae*. *Ecological Entomology*, 13: 121-129.

Baust JG, Rojas RR, 1985. Insect cold hardiness: facts and fancy. *Journal of Insect Physiology*, 31: 755-759.

Carrillo MA, Cannon CA, Wilcke WF, Morey RV, Kaliyan N, Hutchison WD, 2005. Relationship between supercooling point and mortality at low temperatures in Indian meal moth (Lepidoptera:

Pyralidae). *Journal of Economic Entomology*, 98: 618 – 625.

Chen B, Kang L, 2002. Cold hardiness and supercooling capacity in the pea leafminer *Liriomyza huidobrensis*. *Cryoletters*, 23: 173 – 182.

Chen ZZ, Song N, Guo YN, Yu JF, Yin XC, Zhang F, Xu YY, 2013a. Activity changes of four enzymes in naturally overwintering adults of *Chrysoperla sinica* (Neuroptera: Chrysopidae). *Acta Entomologica Sinica*, 56(9): 982 – 988. [陈珍珍，宋暖，郭亚楠，于金凤，印象初，张帆，许永玉，2013a. 中华通草蛉自然越冬成虫在长、短光周期下滞育解除过程中体内相关酶活力变化. 昆虫学报，56(9): 982 – 988]

Chen ZZ, Zhao N, Yin XC, Zhang F, Xu YY, 2013b. Physiological and biochemical changes in naturally overwintering adults of *Chrysoperla sinica* (Neuroptera: Chrysopidae) during diapause termination under two different photoperiods. *Acta Entomologica Sinica*, 56 (2): 120 – 130. [陈珍珍，赵楠，印象初，张帆，许永玉，2013b. 中华通草蛉自然越冬成虫在两种光周期下滞育解除过程中的生理生化变化. 昆虫学报，56(2): 120 – 130]

Colinet H, Renault D, Hance T, Vernon P, 2006. The impact of fluctuating thermal regimes on the survival of a cold-exposed parasitic wasp, *Aphidius colemani*. *Physiological Entomology*, 31: 234 – 240.

Denlinger DL, 1991. Relationship between cold hardiness and diapause. In: Lee REJr, Denlinger DL eds. Insects at Low Temperature. Chapman and Hall Press, New York. 175 – 198.

Guo HB, Xu YY, Ju Z, Li MG, 2006. Seasonal changes of cold hardiness of the green lacewing, *Chrysoperla sinica* (Tjeder) (Neuroptera: Chrysopidae). *Acta Ecologica Sinica*, 26 (10): 3238 – 3244. [郭海波，许永玉，鞠珍，李明贵，2006. 中华通草蛉成虫抗寒能力季节性变化. 生态学报，26 (10): 3238 – 3244.

Herman WS, Dallmann SH, 1981. Endocrine biology of the painted lady butterfly *Vanessa cardui*. *Journal of Insect Physiology*, 27: 163 – 168.

Higuchi C, Kimura MT, 1985. Influence of photoperiod on low temperature acclimation for cold-hardiness in *Drosophila triauraria*. *Physiological Entomology*, 10: 303 – 308.

Hodková M, Berková P, Zahradníčková H, 2002. Photoperiodic regulation of the phospholipid molecular species composition in thoracic muscles and fat body of *Pyrrhocoris apterus* (Heteroptera) via an endocrine gland, corpus allatum. *Journal of Insect Physiology*, 48: 1009 – 1019.

Hodkova M, Hodek I, 2004. Photoperiod, diapause and cold-hardiness. *European Journal of Entomology*, 101: 445 – 458.

Horwath KL, Duman JG, 1983. Preparatory adaptations for winter survival in the cold hardy beetles, *Dendroides canadensis* and *Dendroides concolor*. *Journal of Comparative Physiological*, 151: 225 – 232.

Khani A, Moharramipour S, 2009. Cold hardiness and supercooling capacity in the overwintering larvae of the codling moth, *Cydia pomonella*. *Journal of Insect Science*, 10: 1 – 12.

Kim Y, Song W, 2000. Effect of thermoperiod and photoperiod on cold tolerance of *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae). *Environmental Entomology*, 29: 868 – 873.

Koch RL, Carrillo MA, Venette RC, Cannon CA, Hutchison WD, 2004. Cold hardiness of the multicolored Asian lady beetle (Coleoptera: Coccinellidae). *Environmental Entomology*, 33: 815 – 822.

Koštál V, 2006. Eco-physiological phases of insect diapause. *Journal of Insect Physiology*, 52: 113 – 127.

Koštál V, Tamura M, Tolarová M, Zahradníčková H, 2004a. Enzymatic capacity for accumulation of polyol cryoprotectants changes during diapause development in the adult red firebug, *Pyrrhocoris apterus*. *Physiological Entomology*, 29: 344 – 355.

Koštál V, Tollarová M, Šula J, 2004b. Adjustments of the enzymatic complement for polyol biosynthesis and accumulation in diapause cold-acclimated adults of *Pyrrhocoris apterus*. *Journal of Insect Physiology*, 50: 303 – 313.

Kutcherov DA, Lopatina EB, Kipyatkov VE, 2011. Photoperiod modifies thermal reaction norms for growth and development in the red poplar leaf beetle *Chrysomela populi* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Journal of Insect Physiology*, 57: 892 – 898.

Lee REJr, 1991. Principles of insect low temperature tolerance. In: Lee REJr, Denlinger DL eds. Insects at Low Temperature. New York and London, Chapman and Hall. 17 – 46.

Lee REJr, Denlinger DL, 1985. Cold tolerance in diapausing and non-diapausing stages of the flesh fly, *Sarcophaga crassipalpis*. *Physiological Entomology*, 10: 305 – 315.

Nedvěd O, Lavy D, Verhoef HA, 1998. Modelling the time-temperature relationship in cold injury and effect of high temperature interruptions on survival in a chill-sensitive collembolan. *Functional Ecology*, 12: 816 – 824.

Pullin AS, 1996. Physiological relationships between insect diapauses and cold tolerance: coevolution or coincidence? *European Journal of Entomology*, 93: 121 – 129.

Pullin AS, Bale JS, Fontaine LR, 1991. Physiological aspects of diapause and cold tolerance during overwintering in *Pieris brassicae*. *Physiological Entomology*, 16: 447 – 456.

Renault D, Salin C, Vannier G, Vernon P, 2002. Survival at low temperatures in insects: what is the ecological significance of the supercooling point? *Cryoletters*, 23: 217 – 228.

Rojas RR, Hamilton MD, Baust JG, 1987. Juvenile hormone modulation of insect cold hardening: ice nucleating activity. *Cryobiology*, 24: 465 – 472.

Sinclair BJ, Vernon P, Klok CJ, Chown SL, 2003. Insects at low temperatures: an ecological perspective. *Trends in Ecology & Evolution*, 18: 257 – 262.

Sømme L, 1999. The physiology of cold hardiness in terrestrial arthropods. *European Journal of Entomology*, 96: 1 – 10.

Tatsumi E, Takada H, 2005. Effects of photoperiod and temperature on adult oligopause of *Aphelinus asychis* and larval diapause of *A. Albipodus* (Hymenoptera: Aphelinidae). *Applied Entomology and Zoology*, 40: 447 – 456.

Vesala L, Hoikkala A, 2011. Effects of photoperiodically induced reproductive diapause and cold hardening on the cold tolerance of *Drosophila montana*. *Journal of Insect Physiology*, 57: 46 – 51.

Watanabe M, Tanaka K, 1998. Effect of juvenile hormone analogs on

diapause termination and myo-inositol content in *Aulacophora nigripennis adults* (*Coleoptera*: *Chrysomelidae*). *Applied Entomology and Zoology*, 33: 259 – 262.

Watanabe M, Tanaka K, 2000. Hormonal control of diapause and overwintering traits in a leaf beetle, *Aulacophora nigripennis*. *Physiological Entomology*, 25: 337 – 345.

Xu L, Neven LG, Duman JG, 1990. Hormonal control of hemolymph lipoprotein ice nucleators in overwintering freeze-susceptible larvae of the stag beetle *Ceruchus piceus*: adipokinetic hormone and juvenile hormone. *Journal of Comparative Physiological*, 160: 51 – 59.

Xu YY, 2001. Diapause Mechanism and Application of *Chrysoperla sinica* (Tjeder). Zhejiang University, Hangzhou. 80. [许永玉, 2001. 中华通草蛉的滞育机制和应用研究. 杭州: 浙江大学博士学位论文. 80]

Xu YY, Mu JY, Hu C, Wang HG, 2004. Photoperiodic control of adult diapause in *Chrysoperla sinica* (Tjeder) (Neuroptera: Chrysopidae) – I. Critical photoperiod and sensitive stages of adult diapause induction. *Entomologia Sinica*, 11: 191 – 198.

Zachariassen KE, 1985. Physiology of cold tolerance in insects. *Physiological Reviews*, 65: 799 – 832.

Zhao J, Yu LY, Li M, Zheng FQ, Zhang F, Xu YY, 2008. Seasonal variation in cold tolerance of the multicolored ladybeetle, *Harmonia axyridis* (Pallas) (Coleoptera: Coccinellidae) adults. *Acta Entomologica Sinica*, 51(12): 1271 – 1278. [赵静, 于令媛, 李敏, 郑方强, 张帆, 许永玉, 2008. 异色瓢虫成虫耐寒能力的季节性变化. 昆虫学报, 51(12): 1271 – 1278]

(责任编辑: 袁德成)